Aus dem Anatomischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr.med.W. Graumann

Speicherung von Carboxymethylcellulose und Polyphloretinphosphat im reticulo-endothelialen System des Goldhamsters

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hubert Bernhard von Jürgensonn
aus Stuttgart

8135

1965

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr.med.W. Graumann

Speicherung von Carboxymethylcellulose und Polyphloretinphosphat im reticulo-endothelialen System des Goldhamsters

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hubert Bernhard von Jürgensonn
aus Stuttgart

1965

Dekan: Professor Dr.med.W.Schulte

Berichterstatter: Professor Dr.med.W.Graumann

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Untersuchungsgut und Methodik	2
Tierversuche	2
Histologische Technik	3
Befunde	1o
Versuch a: Injektion einer 1%igen Carboxymethylcellulose-Lösung	1o
Versuch b: Injektion von 1oo I.E. ACTH-Frederiksberg	12
Versuch c: Injektion von 14o I.E. Depot-Acethropan Hoechst	17
Diskussion	21
Zusammenfassung	28
Literaturverzeichnis	

Einleitung

Das reticulo-endotheliale System (ASCHOFF 1924) ist nicht nur zur Phagocytose korpuskulärer Elemente, sondern auch zur Aufnahme und Speicherung von gelösten Makromolekülen befähigt. Von besonderem Interesse sind in diesem Zusammenhang Verbindungen, die aus medizinischer Indikation in den Körper eingebracht werden. Ihr Verbleib und die Möglichkeiten ihres Abbaues haben nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung.

Für die histologische Untersuchung derartiger Speicherprobleme eignen sich besonders Stoffe, deren histochemischer Nachweis leicht zu führen ist. Eine solche Verbindung ist die Carboxymethylcellulose. Sie hat als makromolekulare Trägersubstanz in Bronchographiemitteln (FISCHER 1948 und 1950; VISCHER 1951; WERTHEMANN und VISCHER 1951; ZOLLINGER 1951; ZOLLINGER und FISCHER 1953; SCHMIDTMANN und DICK 1952) sowie in ACTH-Depotpräparaten (SELYE 1955) Verwendung gefunden und läßt sich mit den Mitteln der Polysaccharidhistochemie verhältnismäßig leicht topochemisch erfassen (GRAUMANN 1957 a; GRAUMANN und GOTHE 1959).

In Vorversuchen (GRAUMANN 1957 b) war festgestellt worden, daß die in Speicherzellen der Nebenniere des Goldhamsters aufgenommene Carboxymethylcellulose innerhalb von vier Tagen kaum abgebaut wird. Die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung ist die Prüfung des Verhaltens des Speicherstoffs im Langzeitversuch.

U n t e r s u c h u n g s g u t
u n d M e t h o d i k

1. Tierversuche

Um einen direkten Vergleich mit vorausgegangenen Untersuchungen (GRAUMANN 1956 a-d; 1957 a,b) zu ermöglichen, wurde der Goldhamster (Mesocricetus auratus) als Versuchstier benutzt. Es wurden gesunde männliche Tiere im Alter von etwa 3 Monaten mit einem Gewicht von ca. 6o g verwendet. Die Applikation des Speicherstoffs erfolgte durch subcutane Injektion unter die Rückenhaut in Höhe des Übergangs von der Brust- zur Lendenwirbelsäule. Die Tötung der Versuchstiere erfolgte jeweils vormittags mit Leuchtgas. Bei noch schlagendem Herzen wurden die Nebennieren, submandibuläre Lymphknoten und eine etwa 1 mm dicke Leberscheibe zur histologischen Weiterverarbeitung entnommen.

Im einzelnen wurden folgende Versuchsserien angesetzt:

a) Insgesamt 1o Hamstern wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen je 1 ml einer 1%igen Lösung von Carboxymethylcellulose ("Natrium-Carboxymethylcellulose" FLUKA) in physiologischer Kochsalzlösung verabfolgt. Jedes Tier erhielt somit insgesamt 5o mg Carboxymethylcellulose. Je zwei Hamster dieser Serie wurden 24, 72 Stunden sowie 1, 2 und 3 Wochen nach der letzten Injektion zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials getötet.

b) Insgesamt 9 Hamstern wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen täglich je 1 Ampulle mit 2o I.E. "ACTH-Frederiksberg mit Depoteffekt" injiziert. Dieses ACTH-Präparat enthält Carb-

oxymethylcellulose als den Depoteffekt bewirkende hochmolekulare Trägersubstanz. Je 1, bzw. 2 Hamster wurden 24, 37, 72, 12o Stunden sowie 1, 2 und 3 Wochen nach der letzten Injektion zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials getötet.

c) Es stand weiterhin das bereits histologisch verarbeitete Material aus einer früheren Versuchsserie zur Auswertung zur Verfügung. Die Tiere dieser Reihe hatten an 7 aufeinanderfolgenden Tagen je 2o I.E. "Depot-Acethropan Hoechst" subcutan erhalten und waren nach 24, 48, 72 und 96 Stunden getötet worden. Das hier verwendete ACTH-Präparat enthält als Trägersubstanz das polyvalente Anion Polyphloretinphosphat mit einem Molekulargewicht von etwa 15 ooo. Diese Serie diente dem Vergleich mit der Carboxymethylcellulose-Speicherung.

Schließlich stand dem Untersucher das gesamte Belegmaterial früherer Veröffentlichungen (GRAUMANN 1956 a-d; 1957 a,b) ergänzend zur Verfügung, ebenso Kontrollpräparate von nur mit Injektionen mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tieren.

2. Histologische Technik

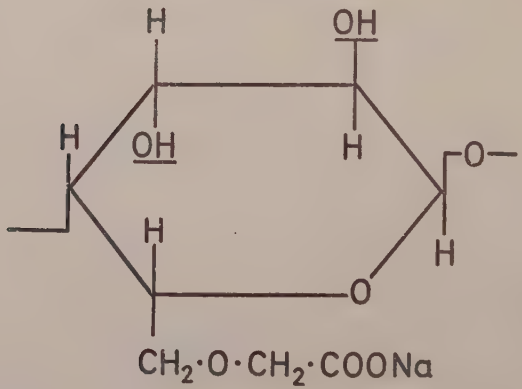
Die entnommenen Organe (Nebennieren, Lymphknoten) bzw. Organscheiben (Leber) wurden lebensfrisch 24 Stunden in dem "Susa"-Gemisch (mit den fixierenden Komponenten Sublimat, Trichloressigsäure, Eisessig und Formol; ROMEIS 1948, § 344) bei Raumtemperatur fixiert. Wie bereits aus früheren Untersuchungen (GRAUMANN 1957 a; GRAUMANN und GOTHE 1959) bekannt ist, werden die hier verwendeten Speicherstoffe durch Susafixation ausgezeichnet konserviert. Die Einbettung erfolgte in üblicher

Weise über Methylbenzoat und Benzol in Paraffin. Die Schnittdicke betrug 8 µm.

Die Entfernung der Sublimatniederschläge erfolgte ausschließlich durch Schnittentsublimatisierung (ROMEIS 1948, § 327), nachdem zuvor festgestellt worden war, daß die Ergebnisse der angewendeten Färbungen und Reaktionen durch die mit der Entsublimatisierung verbundene Jod- und Natriumthiosulfatbehandlung nicht beeinträchtigt werden.

Der allgemeinen morphologischen Orientierung diente die Hämalaun-Erythrosin-Färbung. Diese wurde nach ROMEIS (1948, § 659) durchgeführt.

Für den topochemischen Nachweis der Carboxymethylcellulose (Formel I) wurde die Tatsache ausgenutzt, daß in der Glucoseeinheit an benachbarten C-Atomen OH-Gruppen vorkommen.

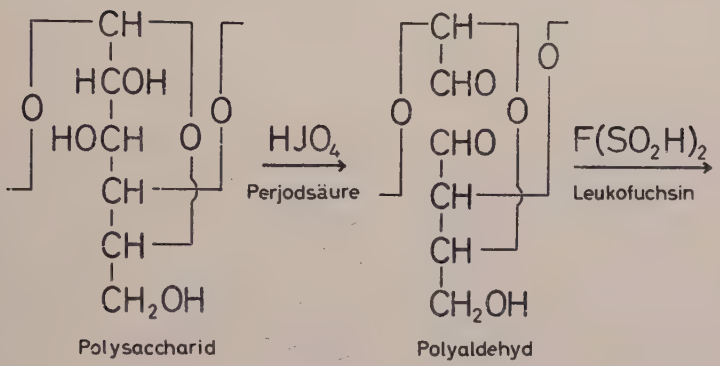


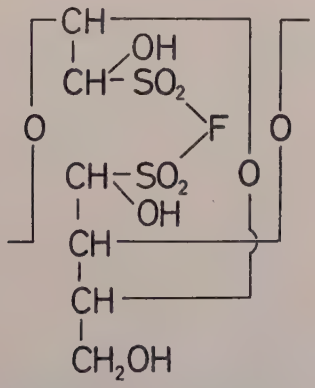
(I)

Verbindungen dieses 1,2-Glykol-Typs werden durch Perjodsäure in spezifischer Weise unter Bildung von Aldehydgruppen oxydiert (Formelschema II). Die Aldehydgruppen lassen sich dann - analog

dem Vorgehen bei der Feulgenreaktion - mit Leukofuchsin (Schiff'sches Reagens, fuchsinschwefelige Säure) durch Bildung einer gefärbten Verbindung nachweisen.

PERJODAT-LEUKOFUCHSINREAKTION





(II)

Für den Nachweis der Carboxymethylcellulose wurde die Perjodat-Leukofuchsinreaktion (McMANUS 1948) in folgender Modifikation (GRAUMANN 1953) durchgeführt:

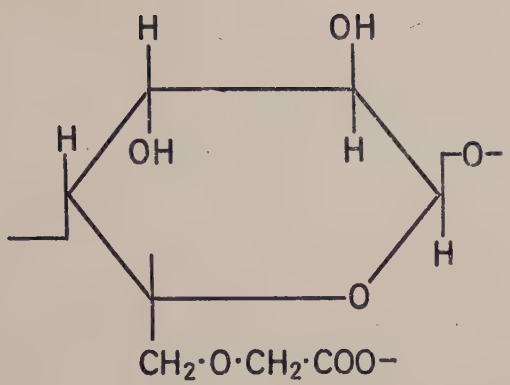
1. Oxydation der entparaffinierten Präparate in o,5%iger wässriger Perjodsäurelösung 1) lo Minuten.
2. Auswaschen des Oxydationsmittels erst in Leitungswasser lo Minuten, dann in Aqua dest. 2 x 2 Minuten.
3. Aldehydreaktion mit Leukofuchsin (GRAUMANN 1953)[2] 3o Minuten.
4. Auswaschen des nicht gebundenen Leukofuchsins in 3 x SO_2-Wasser (ROMEIS 1948, § 1235) je 2 Minuten.
5. Auswaschen der überschüssigen schwefligen Säure in Leitungswasser 5 Minuten.
6. Gegenfärbung der Kerne in Hämalaun (ROMEIS 1948, § 651) 1 - 2 Minuten.
7. Alkalisierung zur Vertiefung der Kernfärbung durch Leitungswasser lo Minuten.
8. Entwässerung durch die aufsteigende Alkoholreihe und Einschluß über Xylol in DePeX 3).

Um den Einfluß der Kernfärbung auszuschalten, wurden Kontrollpräparate auch unter Weglassung der Schritte 6 und 7 behandelt.

Außer der 1,2-Glykolgruppierung kommen für die topochemische Erfassung der Carboxymethylcellulose auch deren saure Gruppen in Betracht. Die Carboxymethylcellulose liegt in dissoziiertem Zustand als Polyanion vor (Formel III), dessen elektronegative Ladungen Farbstoffkationen zu binden vermögen.

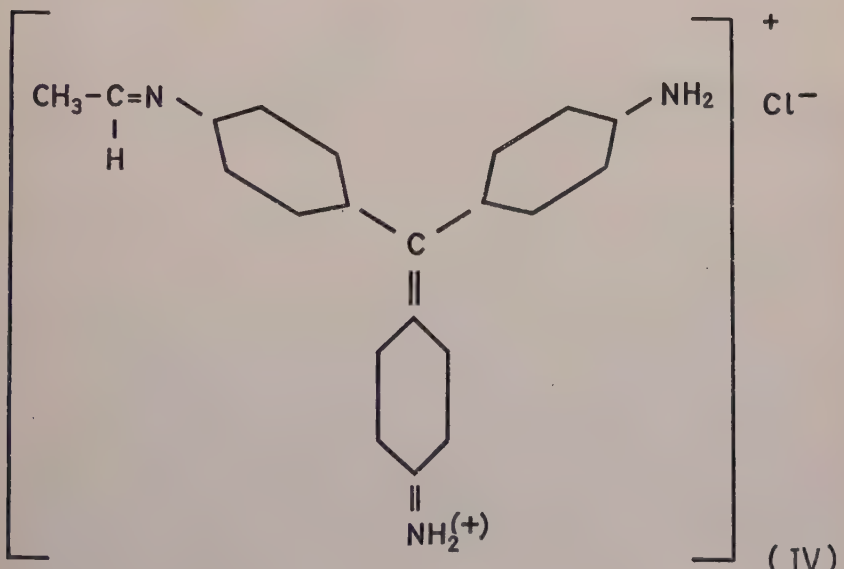
---

1) "Perjodsäure krist." MERCK.
2) Das Schiff'sche Reagens wurde nach den Angaben von GRAUMANN (1953) auf der Basis von Pararosanilin hergestellt. Es wurde "Pararosanilin stand. akridinfrei" BAYER verwendet.
3) "DePeX Mounting Medium" GEORGE T.GURR Ltd., London.



(III)

Nach einem Vorschlag von GRAUMANN (1958) wurde für diesen Zweck der basische Phenylmethan-Farbstoff Aldehydfuchsin[1] (Formel IV) verwendet.



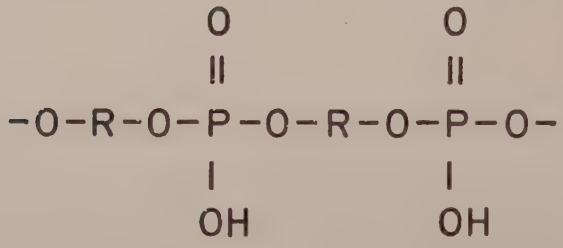
(IV)

---

1) "Aldehydfuchsin nach GOMORI-GABE" der Firma BAYER.

Die originale Aldehydfuchsinfärbung, 1950 von GOMORI zur Darstellung von elastischen Fasern in die histologische Technik eingeführt, wird im Anschluß an eine spezielle Vor-oxydation vorgenommen. Letztere bewirkt eine Freisetzung maskierter Aldehydgruppen. Der Farbstoff kann mit diesen wegen des Vorhandenseins einer zu Bildung Schiff'scher Basen befähigten NH_2-Gruppe reagieren (HARMS 1958; SCOTT-CLAYTON 1953; GASTALDI 1954; BRAUN-FALCO 1956; LISON 1960).

Nach den Erfahrungen GRAUMANNS (1958) eignet sich die Aldehydfuchsinfärbung bei Verzicht auf die spezifische Vor-oxydation als elektive Färbemethode für saure Polysaccharide. In dieser Form und in diesem Sinn wurde sie in der vorliegenden Untersuchung benutzt. Das Verfahren bietet dabei den besonderen Vorteil, auch das in einer Versuchsserie als Speicherstoff verwendete stark negativ geladene Polyphloretinphosphat (Formel V nach DICZFALUSY et al. 1953) färberisch zu erfassen.



(V)

R = Phloretin (Aglucon des Phloridzin)

Die Aldehydfuchsinfärbung wurde nach GABE (1953), jedoch ohne Voroxydation (GRAUMANN 1958) durchgeführt. Lediglich zur Verbesserung der Färbungsintensität für mikrophotographische Zwecke wurde die Aldehydfuchsinfärbung zusätzlich auch mit Voroxydation vorgenommen.

Die entparaffinierten Schnitte werden aus destilliertem Wasser wie folgt behandelt:

1. Färbung in Gebrauchslösung 1o Minuten.
   Die zur Färbung benützte "Gebrauchslösung" wurde durch Zusammenfügen von 25 ml "Stammlösung", 75 ml 7o%igen Äthylalkohol und 1 ml Eisessig hergestellt. Die Stammlösung ist eine gesättigte (ca.6%ige) Lösung von Aldehydfuchsin in 7o%igem Äthylalkohol.
2. Abspülen in 95%igem Äthylalkohol.
3. 1o-4o Sekunden Differenzierung in HCl-Alkohol bis die betreffenden Zellen blaurot auf fast entfärbtem Grund erscheinen. (HCl-Alkohol: o,5 ml conc. HCl in 1oo,o ml absolutem Alkohol). Durch die Säurebehandlung wird lediglich nicht fest gebundener Farbstoff ausgewaschen; die Farbstoffbindung ist sehr stabil.
4. Leitungswasser 1o Minuten.
5. Gegenfärbung der Zellkerne mit Eisentrioxyhämatein nach HANSEN 1/2-1 Minute (ROMEIS 1948, § 681).
6. Alkalisierung zur Vertiefung der Kernfärbung durch Leitungswasser 1 Minute.
7. Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe und Einschluß in DePeX.

Die Voroxydation wurde in folgender Weise vorgenommen:

1. Die aus destilliertem Wasser kommenden entparaffinierten Schnitte wurden 1 Minute in folgendem Gemisch einer oxydativen Behandlung unterzogen:
   1 Vol. 2,5%ige Kaliumpermanganat-Lösung
   1 Vol. 5,o%ige Schwefelsäure
   6 Vol. Aqua dest.
2. Abspülen mit Leitungswasser.
3. Bleichen in 2%iger Natriumbisulfit-Lösung.
4. Auswaschen in Leitungswasser 3o Sekunden. Anschließend wird wie bei der oben angegebenen Färbeprozedur verfahren.

B e f u n d e

Versuchsserie a

Injektion von täglich je 1 ml einer 1%igen Carboxymethylcelluloselösung an 5 aufeinanderfolgenden Tagen (insgesamt 5o mg Substanz pro Tier).

Leber

In dem gesamten Untersuchungszeitraum zwischen 24 Stunden und 3 Wochen nach der letzten Injektion ist eine Speicherung in Uferzellen nachweisbar. Die Speicherzellen sind im maximal beladenen Zustand rundliche, ins Lumen der Sinusoide vorspringende Elemente mit zentral gelegenem Kern. Das Cytoplasma erscheint im HE-Präparat schaumig. Die Speicherzellen liegen vorzugsweise in der Läppchenperipherie und in Kapselnähe.

Der Speicherstoff ist perjodatreaktiv. Mit Aldehydfuchsin läßt er sich nur nach Voroxydation nachweisen.

Die Zahl der Speicherzellen ist anfangs äußerst spärlich und nimmt während des Versuchszeitraums fortschreitend zu. Gleichzeitig kommt es zu einer Vermehrung des Speichermaterials pro Zelle. Es ist anfangs fein granulär und füllt am Ende des Versuchs das Cytoplasma mit groben Schollen und Klumpen aus.

An den Zellkernen der Speicherzellen sind während des Versuchs keine morphologischen Veränderungen festzustellen.

Nebenniere

In der Nebennierenrinde sind Speicherzellen im interstitiellen Gewebe der Zona glomerulosa und Zona reticularis zu finden. Die Zona fasciculata enthält praktisch keine

speichernden Zellelemente.

Im Nebennierenmark sind die Speicherzellen entsprechend dem follikelartigen Bau beim Goldhamster (GRAUMANN 1956 b) inter- und intrafollikulär anzutreffen. Da im Mark wesentlich mehr Speicherzellen vorkommen als in der Rinde, werden im weiteren nur Befunde an Speicherzellen des Marks beschrieben. Diese Einschränkung ist berechtigt, da sich die Speicherzellen der Rinde hinsichtlich der Art der Ablagerung des Materials, ihrer Anzahl und des Zustands des Kerns gleichartig wie die Speicherzellen des Marks verhalten.

Die Speicherzellen sind zu Versuchsbeginn kleinere rundliche, später größere histiocytäre Zellelemente. Am Ende des Versuchs nimmt die Größe wieder ab.

Das Speichermaterial gibt eine positive Perjodat-Leukofuchsinreaktion und ist mit Aldehydfuchsin bereits ohne Voroxydation färbbar. Morphologisch verhält sich der Speicherstoff nach der Perjodat-Leukofuchsinreaktion und nach der Aldehydfuchsinfärbung gleich. Im HE-Präparat erscheint das Cytoplasma der Speicherzellen wabig.

Die Zahl der Speicherzellen steigt zu Beginn des Versuchs rasch an mit einem Maximum 1 Woche nach der letzten Injektion. Gegen Ende des Versuchs nimmt die Speicherzellzahl wieder etwas ab, bleibt jedoch bis zum Ende hoch.

Das Speichermaterial erscheint anfangs fein granulär und dicht, gegen Ende des Versuchs ist es überwiegend grobschollig, zum Teil auch homogenisiert.

Die Zellkerne der Speicherzellen zeigen nach 72 Stunden bereits Anzeichen der Kerndegeneration, die laufend zunimmt,

so daß am Ende des Versuchs sehr viele Kerne degeneriert sind.

Lymphknoten

Die Speicherzellen werden vorwiegend in den Rand- und Marksinus gefunden. Dabei handelt es sich meist um abgelöste, voluminöse Retikulumzellen.

Der Speicherstoff ist stark perjodatreaktiv und mit Aldehydfuchsin bereits ohne Voroxydation färbbar.

Die Zahl der Speicherzellen nimmt anfangs rasch zu, um nach 2 Wochen ein Maximum zu erreichen. Gegen Ende des Versuchs nimmt die Zahl der Speicherzellen eher wieder etwas ab, bleibt jedoch hoch. Das Speichermaterial wird anfangs relativ feinkörnig, später gröber in den Zellen abgelagert.

Kerndegenerationen in den Speicherzellen sind gegen Ende des Versuchs nicht selten.

Versuchsserie b

Injektion von täglich je 2o I.E. ACTH-Frederiksberg (Trägersubstanz Carboxymethylcellulose) an 5 aufeinanderfolgenden Tagen.

Leber

Speicherzellen sind bevorzugt in der Läppchenperipherie anzutreffen. Es handelt sich bei den Speicherzellen meist um Uferzellen, die z.T. von der Sinuswand abgelöst sind.

Die Größe der Speicherzellen nimmt während des Versuchs laufend zu; sie erreicht nach 12o Stunden ein Maximum und verringert sich dann wieder etwas.

Das perjodatreaktive und bereits ohne Voroxydation aldehydfuchsinpositive Speichermaterial (Abb.1) wird anfangs in

relativ feinen Granula und Schollen abgelagert. Gegen Ende des Versuchs erfolgt eine starke Vergröberung und Verklumpung des Speichermaterials.

Kernde generation tritt in vereinzelten Speicherzellen bereits nach 1 Woche auf und nimmt gegen Ende des Versuchszeitraums zu.

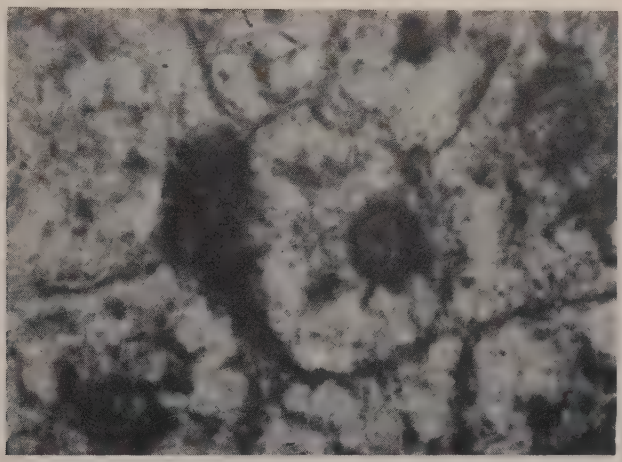


Abb.1. Leber, Aldehydfuchsinfärbung ohne Voroxydation, 37 Stunden nach der letzten Injektion (Carboxymethylcellulose). Sternzelle mit aldehydfuchsinpositivem Material.

Nebenniere

Die inter- und intrafollikulär gelegenen Speicherzellen des Marks sind von histiocytärem Zellcharakter. Solange sie wandständig liegen weisen sie oft langgestreckte Ausläufer auf, während sie sich beim Ablösen und Eintritt in das Follikellumen abrunden (Abb.2;3).

Der Speicherstoff ist stark perjodatreaktiv (Abb.2) und färbt sich schon ohne vorherige Oxydation stark mit Aldehydfuchsin. Die Zahl der Speicherzellen ist bereits zu Beginn

des Versuchs relativ groß: nahezu in jedem Follikellumen sind eine oder mehrere dieser voluminösen Elemente anzutreffen. Vom 72-Stunden-Stadium an nimmt die Zahl der Speicherzellen deutlich ab. Das gespeicherte Material wird zuerst fein, später grob und dicht, z.T. in Form von Tropfen und Klumpen abgelagert.

Degenerationserscheinungen (Abb.4) an den Kernen der Speicherzellen treten nach 72 Stunden auf. Am Ende des Versuchs ist ein hoher Prozentsatz der Kerne degeneriert.

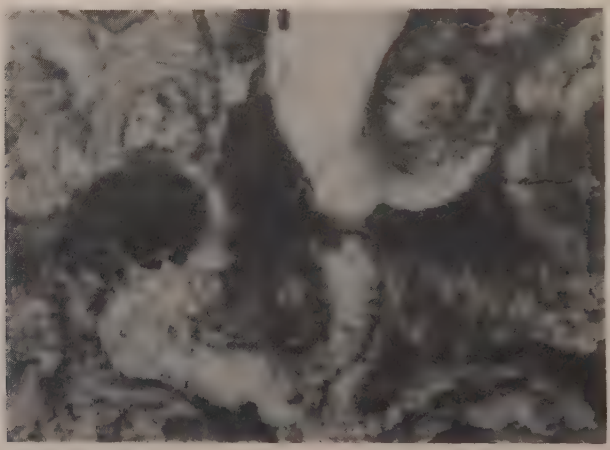


Abb.2. Nebennierenmark, Perjodsäure-Leukofuchsinreaktion/ Hämalaun, 1 Woche nach der letzten Injektion (Carboxymethylcellulose).
Wandständige Speicherzellen mit perjodatreaktivem Material.

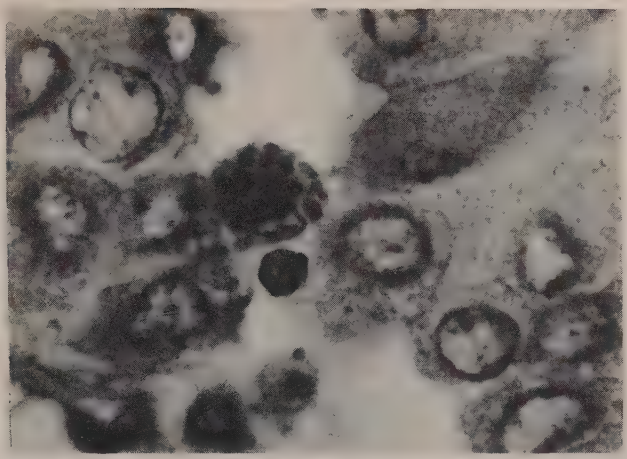


Abb.3. Nebennierenmark, Aldehydfuchsinfärbung mit Voroxydation, 1 Woche nach der letzten Injektion (Carboxymethylcellulose).
Abgelöste Speicherzellen mit aldehydfuchsinpositiven Material.

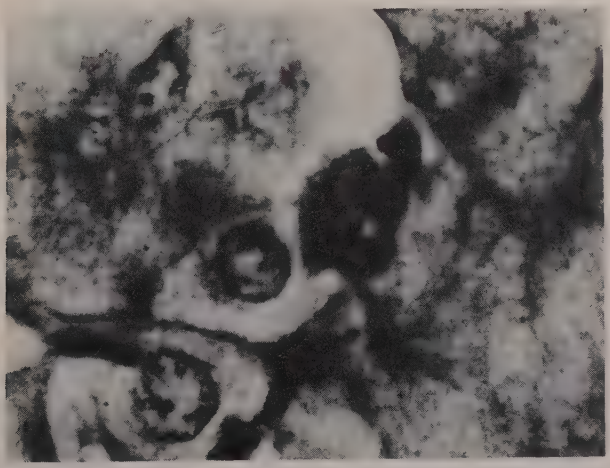


Abb.4. Nebennierenmark, Perjodsäure-Leukofuchsinreaktion/ Hämalaun, 72 Stunden nach der letzten Injektion (Carboxymethylcellulose).
Speicherzelle mit perjodatreaktivem Material und den Zelleib vorwölbendem, pyknotischem Kern.

Lymphknoten

Die Speicherzellen, meist Retikulumzellen, sind in den Rand- und Marksinus sowie in den Markssträngen bevorzugt anzutreffen. Die Rinde ist mit Ausnahme der Reaktionszentren praktisch frei von Speicherzellen.

Während der ganzen Versuchsdauer behalten die voluminösen Speicherzellen (Abb.5) ihre Größe bei.

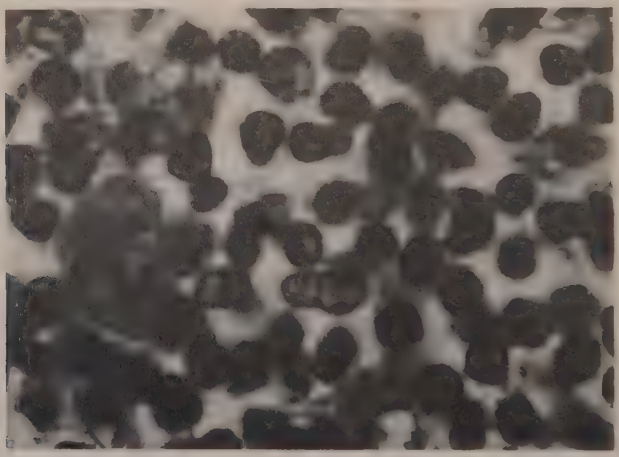


Abb.5. Lymphknoten, Perjodsäure-Leukofuchsinreaktion/Hämalaun, 1 Woche nach der letzten Injektion (Carboxymethylcellulose).
Speicherzellen mit perjodatreaktivem Material.

Die Zahl der Speicherzellen nimmt zunächst bis zum 3-Wochen-Stadium (Abb.6) zu. Danach ist ein gewisser Rückgang der Zahl der Speicherzellen festzustellen.

Das perjodatreaktive (Abb.5) und auch bereits ohne Voroxydation aldehydfuchsinpositive Speichermaterial wird zu Versuchsbeginn in feinen Granula und Schollen abgelagert, am Ende des Versuchs liegt es in gröberer Ablagerung in den Speicher-

zellen vor.

Kerndegeneration in den Speicherzellen kommt vor, ist jedoch längst nicht so zahlreich wie in der Nebenniere.

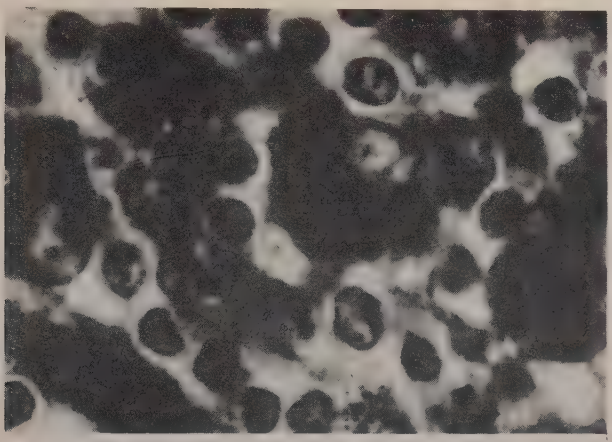


Abb.6. Lymphknoten, Aldehydfuchsinfärbung mit Voroxydation, 3 Wochen nach der letzten Injektion (Carboxymethylcellulose). Große Speicherzellen mit aldehydfuchsinpositivem Material.

Versuchsserie c

Injektion von insgesamt 14o I.E. "Depot-Acethropan Hoechst" (Trägersubstanz Polyphloretinphosphat).

Leber

Die Speicherzellen, meist Uferzellen, sind vor allem in der Läppchenperipherie zu beobachten. Die Grösse der Speicherzellen nimmt während der Versuchsdauer ab. Auch die Zahl der speichernden Elemente verringert sich nach 72 Stunden deutlich. Bei grober Übersicht wurden im 24-Stunden-Präparat 6o Speicherzellen, im 72-Stunden-Präparat 3o Zellen pro Seh-

feld ausgezählt.

Das Speichermaterial ist perjodatreaktiv und bereits ohne Voroxydation mit Aldehydfuchsin färbbar (Abb.7). Es ist während der ganzen Versuchsdauer überwiegend fein granulär; gegen Ende des Versuchs finden sich jedoch in zunehmenden Mass auch Speicherzellen mit grobscholligem Material.

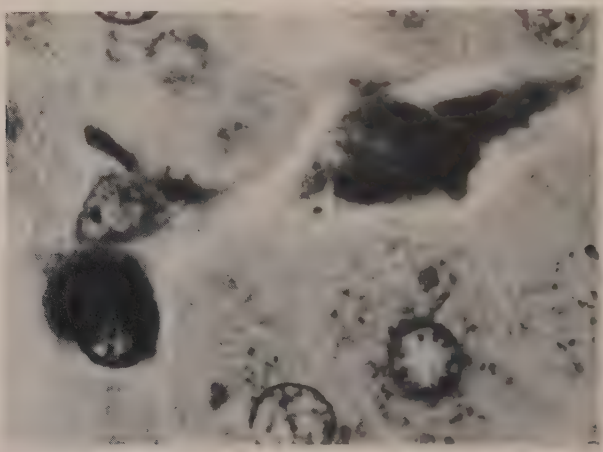


Abb.7. Leber, Aldehydfuchsinfärbung ohne Voroxydation, 24 Stunden nach der letzten Injektion (Polyphloretinphosphat). Abgelöste Sternzellen mit aldehydfuchsinpositivem Material.

Die Kerne der Speicherzellen zeigen bereits zu Beginn des Versuchs, d.h. 24 Stunden nach der letzten Injektion, Degenerationserscheinungen, die gegen Ende der Versuchsdauer zunehmen. Häufig wird eine Vorwölbung des extrem randständigen Kerns aus dem Zelleib heraus beobachtet.

Nebenniere

Die Strombahn der Rinde zeigt eine starke Erweiterung, die am Ende des Versuchs zurückgeht.

Die Grösse der Speicherzellen verringert sich während des Versuchs ständig. Die außerordentlich große Zahl der speichernden Zellelemente (Abb.8) in den Follikellumina des Marks nimmt fortschreitend ab.

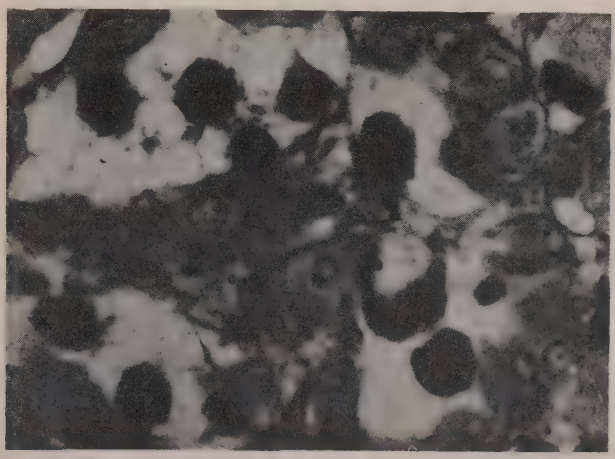


Abb.8. Nebennierenmark, Perjodsäure-Leukofuchsinreaktion/ Hämalaun, 24 Stunden nach der letzten Injektion (Polyphloretinphosphat).
Mehrere Speicherzellen mit perjodatreaktivem Material.

Das Speichermaterial läßt sich mit der Perjodat-Leukofuchsinreaktion (Abb.8;9) und der Aldehydfuchsinfärbung bereits ohne Voroxydation nachweisen. Der Speicherstoff wird zunächst in fein granulärer Form gestapelt; gegen Ende der Versuchsdauer wird er sehr grob und dicht im Cytoplasma der Speicherzellen abgelagert.

Kerndegeneration, meist Pyknose, tritt 48 Stunden nach der letzten Injektion auf. Am Ende des Versuchs sind nahezu alle Kerne der Speicherzellen pyknotisch. Die Zellkerne liegen vielfach extrem oberflächlich und wölben die Zelloberfläche auffallend vor.

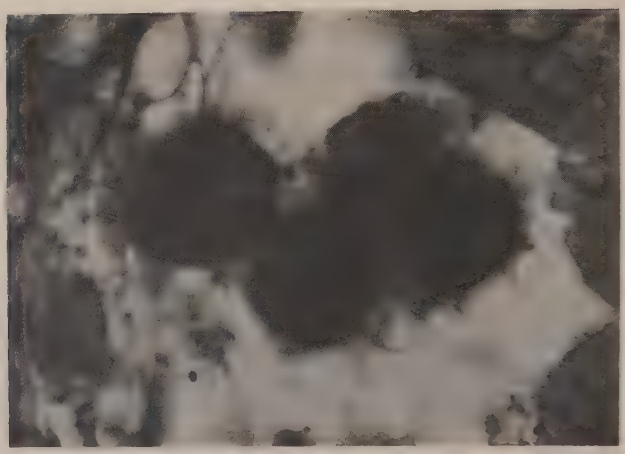


Abb. 9. Nebennierenmark, Perjodsäure-Leukofuchsinreaktion/ Hämalaun, 24 Stunden nach der letzten Injektion (Polyphloretinphosphat).
Im Follikellumen gelegene Speicherzellen mit perjodatreaktivem Material und randständigen Kernen.

Lymphknoten

Die Speicherzellen sind fast ausschließlich Retikulumzellen. Sie sind bevorzugt in den Rand- und Marksinus sowie in den Marksträngen zu finden. Im HE-Präparat erscheint das Cytoplasma der Speicherzellen schaumig.

Die sehr großen speichernden Elemente behalten ihre Grösse während der ganzen Versuchsdauer bei. Die Zahl der Speicherzellen nimmt gegen Ende des Versuchs stark ab. Zu Versuchsbeginn werden die Sinus oft ganz von Speicherzellen ausgefüllt.

Das perjodatreaktive und aldehydfuchsinpositive Speichermaterial wird zuerst fein in Form von Granula und kleinen Schollen gestapelt, später füllt es in Form von Tropfen und groben Klumpen das Cytoplasma der Speicherzellen aus.

Degenerationserscheinungen an den Kernen der Speicherzellen treten 48 Stunden nach der letzten Injektion auf und nehmen gegen Ende des Versuchs zu. Oft scheinen die randständig liegenden Kerne die Zelloberfläche auszubuchten.

D i s k u s s i o n

Die beiden injizierten Substanzen Carboxymethylcellulose und Polyphloretinphosphat wurden mit Hilfe der Perjodat-Leukofuchsinreaktion und der Aldehydfuchsinfärbung nachgewiesen. Es stellt sich somit die Frage nach der Spezifität der Nachweismethoden. Was zunächst die Perjodat-Leukofuchsinreaktion betrifft, so ist diese an sich keineswegs spezifisch für Polysaccharide. Nach LIPP spaltet Perjodsäure nicht nur die C-C-Bindung von unsubstituierten 1,2-Glykolen (-CHOH - CHOH-) unter Bildung von Aldehydgruppen (vgl.Formel II), sondern reagiert auch mit Amino- und Alkylamino-Substitutionsprodukten von Glykolen, mit gewissen Oxydationsprodukten der Glykolgruppe sowie wahrscheinlich auch mit ungesättigten Verbindungen.

Die genannten Gruppen kommen nach LEBLOND (195o) hauptsächlich in folgenden Substanzen vor:

1. Wasserlösliche Substanzen: Monosaccharide, Aminosäuren und einige Proteine.
2. Fette und fettlösliche Substanzen: Cerebroside, Steroide, Sphingolipoide und Komplexe wie Glykolipide, Lipoproteide.
3. Wasser- und fettunlösliche Substanzen: Polysaccharide, Proteine, Kohlenhydrat-Protein-Komplexe z.B. Mukoproteide u.a.

Bei der vorliegenden histologischen Untersuchung kann die erste dieser Gruppen keine wesentliche Rolle spielen, da wasserlösliche Substanzen bei der Fixierung und den nachfolgenden Wässerungen herausgelöst werden. Ebenso dürfte die zweite Gruppe zum grössten Teil bei der Behandlung der Schnitte mit Alkchol und anderen organischen Lösungsmitteln extrahiert werden. Als Träger einer positiven Perjodat-Leukofuchsinreaktion kommen daher praktisch nur die wasser- und fettunlöslichen Substanzen der dritten Gruppe in Betracht.

Daß Carboxymethylcellulose tatsächlich perjodatreaktiv ist, wurde von GRAUMANN und GOTHE (1959) im Filmtest gezeigt. Wenn in Zellen des reticulo-endothelialen Systems auch nicht selten perjodatreaktives Material vorkommt (GERSH und CATCHPOLE 1949; LEBLOND 1950), so ergab sich doch aus dem eigenen Kontrollmaterial, daß die hier untersuchten speichernden Elemente ohne Applikation von Speicherstoff kein oder nur verschwindend wenig perjodatreaktives Material enthalten. Die intrazellulär gefundenen perjodatreaktiven Stoffe sind in ihrer überwiegenden Masse deshalb tatsächlich auf den zugeführten Speicherstoff zu beziehen.

GEDIGK und PIOCH (1956) fanden nach subcutaner Injektion von anorganischen Stoffen das Auftreten von perjodatreaktiven sauren Polysacchariden in Speicherzellen. Diese als Trägersubstanzen für Metalle bzw. SiO_2 wirkenden Polysaccharide werden von den Autoren als eine Abwehrleistung der Zellen bei der Verarbeitung schwer oder nicht abbaubarer Fremdstoffe angesehen. Auch SCHMIDT (1962) berichtet über das Auftreten perjodatrektiver Granula bei Vitalfärbungsversuchen. Es kann hier

nicht sicher entschieden werden, ob nach Aufnahme von Carboxymethylcellulose nur diese Substanz oder noch zusätzliche reaktiv gebildete Stoffe Träger einer positiven Perjodat-Leukofuchsinreaktion sind. Nach den Befunden von GEDIGK und PIOCH (1956) ist damit zu rechnen, daß reaktiv von der Zelle gebildete perjodatreaktive saure Polysaccharide frühestens 2-3Wochen nach Applikation der Reizsubstanzen auftreten. Da bei der vorliegenden Untersuchung die längste Versuchsdauer 3 Wochen betrug, dürften wohl nur geringe Mengen von den Zellen selbst gebildeter Polysaccharide das Versuchsergebnis beeinflussen.

Die Färbung mit Aldehydfuchsin ohne Voroxydation ist natürlich ebenso unspezifisch wie die Färbung mit einem beliebigen anderen basischen Farbstoff. Sie ist lediglich Indikator für das Vorliegen saurer Gruppen, wie sie sowohl in Carboxymethylcellulose als auch in Polyphloretinphosphat gegeben sind. Da in den Kontrollpräparaten die in Frage kommenden Zellen kein aldehydfuchsinophiles Material enthalten, kann die Färbbarkeit auf die zugeführten Speicherstoffe bezogen werden.

Die Aufnahme von Carboxymethylcellulose und Polyphloretinphosphat in die Zelle dürfte durch Pinocytose erfolgen. Für Carboxymethylcellulose wurde sie von NOVELLO und WESSEL (1963) beschrieben. Sie soll nach WITTEKIND (1960) nur bei Anwesenheit bestimmter Stoffe ("pinocytosis inducers") wie z.B. von Globulinen, Albuminen usw. erfolgen können. HEINZ (1962) und STAUBESAND (1963) erwägen eine primäre Adsorption des in die Zelle zu transportierenden Stoffes an die Zelloberfläche mit anschließender Umlagerung innerhalb der Zellmembran zwecks Weiterführung des Substrats. Die Bindung des Substrats an die Zelloberfläche soll nach JANCSO (1955) rein physikalisch-chemisch erfolgen und im Gegensatz zur eigentlichen Hereinnahme des Materials in die Zelle von deren Stoffwechsel unabhängig sein.

Bei den hier vorgelegten eigenen Versuchen mit Carboxy-

methylcellulose und Polyphloretinphosphat ist das morphologische Speicherungsbild zu Beginn durch relativ feine Granula, später durch grobe Schollen gekennzeichnet. Für den Speicherungsvorgang ist diese auffallende Vergröberung allgemein kennzeichnend und entspricht einer Konzentrierung des gespeicherten Materials (JANCSO 1955; SCHMIDT 1962). Für Carboxymethylcellulose wurde diese Erscheinung anhand von Befunden mit der Thionin-Einschlußfärbung bereits von JUNG und BRIZIARELLI (1954) beschrieben. Die Konzentrierung des gespeicherten Materials in den Zellen ist so vorzustellen, daß bei der Stoffaufnahme entstandene kleine Vakuolen konfluieren oder daß sich das an paraplasmatische Granula, Lipochondrien usw. adsorbierte Material zu grösseren Korpuskeln zusammenlagert. Dabei ist nach SCHMIDT (1962) eine strenge Unterscheidung zwischen Granulum und Vakuole nicht möglich, da sich aus einer Vakuole durch Dehydratation (z.B. bei der histologischen Fixierung) oder durch Abscheidung von Substanzen in die Vakuole (WESSEL und GEDIGK 1959) infolge Dispersitätsverminderung des Vakuoleninhalts ein Granulum bilden kann. Die Umwandlung von Granula in Vakuolen hat v.MÖLLENDORFF (1936) beobachtet. Die Konzentrierung des Speichermaterials ist ein aktiver Vorgang und an lebende Zellen gebunden (PARI 1910; LEPPER 1925; WALLBACH 1931; WEISSMANN 1953; WEISSMANN und GILGEN 1956).

GEDIGK und BONTKE (1957), GEDIGK und FISCHER (1960) sowie LINDNER (1964) haben beim Übergang der inaktiven zur aktiven, d.h. speichernden RES-Zelle eine erhebliche Steigerung der Enzymaktivitäten gefunden. In inaktiven Zellen waren Enzyme kaum nachzuweisen. LINDNER (1964) berichtet über das Auftreten einer induktiven Enzymbildung, während die übrigen Autoren betonen, daß es sich um eine unspezifische Steigerung aller

Enzymaktivitäten handelt. Es wird von einer "Standardausrüstung" der Speicherzellen gesprochen.

Besonders Histiocyten besitzen eine sofort verfügbare Ausstattung mit Enzymen, die bereits im Ruhezustand im Vergleich mit anderen Zellen des reticulo-endothelialen Systems groß ist (LINDNER 1964). Diese weitgehende Differenzierung mag die rasche Hinfälligkeit der Histiocyten bedingen (EHRICH 1956). Vor diesem Hintergrund werden auch gewisse Beobachtungen bei den eigenen Versuchen mit Carboxymethylcellulose und Polyphloretinphosphat verständlich. Die speichernden histiocytären Elemente - besonders im Nebennierenmark - zeigen in großem Umfang Zeichen des Zelluntergangs. Die Degenerationserscheinungen treten bei der Speicherung von Polyphloretinphosphat früher als bei der von Carboxymethylcellulose auf.

Neben den soeben erwähnten Verhältnissen im Nebennierenmark kommt es bei der Speicherung von Polyphloretinphosphat auch in Leber und Lymphknoten zu einer rasch fortschreitenden Zelldegeneration und damit zur Abnahme der Zahl der Speicherzellen. In der Leber lösen sich frühzeitig Uferzellen von der Sinuswand, was bereits als Degenerationszeichen angesehen wird (LETTERER 1933, 1959; PATEK und BERNICK 1960). Nach 72 Stunden sind wieder zahlreiche unbeladene Uferzellen zu sehen. Dieser Zeitraum stimmt mit Ergebnissen aus Versuchen von LETTERER (1933) überein.

Im Vergleich mit dem bei der Polyphloretinphosphatspeicherung auftretenden Ausmaß der Degenerationserscheinungen sind letztere nach Gabe von Carboxymethylcellulose weit weniger ausgeprägt. In nennenswertem Ausmaß wurden Kernpyknosen

lediglich im Nebennierenmark festgestellt.

Bei der Speicherung von Carboxymethylcellulose zeigte sich ein wesentlicher Unterschied zwischen dem reinen Polysaccharid und dessen Gabe in Kombination mit ACTH. Bei der Verwendung von ACTH-Frederiksberg kam es zu einer beträchtlichen Steigerung der Speicherungserscheinungen. Dies ist nach EHRICH (1956); LUDANY (1961) sowie VULCHANOV (1961) als Teil der ACTH-Wirkung auf das Mesenchym zu werten.

Während es nach Applikation des polyphloretinphosphathaltigen Substrats zu einer raschen Auffüllung der Speicherzellen und zu einem ebenso raschen Untergang derselben kommt, steigt nach Anwendung von Carboxymethylcellulose-Präparaten die Zahl maximal aufgespeicherter Zellen bis zu 1 Woche nach der letzten Injektion relativ langsam an, ebenso langsam erfolgt deren allmähliche Abnahme, wie sie von SCHNEBELI et al. (1951) und JUNG und BRIZIARELLI (1954) an anderem Material und mit anderer Nachweismethodik festgestellt worden war.

Die auffallende Zellzerfallsrate nach der Speicherung von Polyphloretinphosphat läßt sich dadurch erklären, daß es nach dessen Aufnahme zu einer übermässigen Steigerung der Enzymaktivitäten und des Zellstoffwechsels, also der anabiotischen Vorgänge kommt, so daß schließlich eine Katabiose daraus resultiert, wie es LETTERER (1959) allgemein beschreibt. Er spricht von einer "Leistungssteigerung als pathogenetischem Prinzip" und meint damit, daß zur Ursache einer katabiotischen Dystrophie der Zelle auch eine bis zur Dystrophie gesteigerte Anabiose werden kann.

Bei der Speicherung von Carboxymethylcellulose kommt es

dagegen nicht zu einem Zelluntergang größeren Umfangs. Der Speicherstoff wird offensichtlich nicht oder nur sehr langsam intrazellulär abgebaut. Daher bleibt die Zahl der Speicherzellen über die Gesamtdauer der Versuche relativ hoch. Eine ähnliche Feststellung wurde von JUNG und BRIZIARELLI (1954) anhand von Untersuchungen mit der Thionin-Einschlußfärbung gemacht. Die Autoren fanden, daß nach Speicherung eines Methylcellulose - Carboxymethylcellulose - Gemisches die Abnahme des Speichermaterials nur sehr langsam erfolgt. Die langsame Abnahme wird mit einem chemischen Abbau oder einer methodisch nicht mehr erfassbaren Veränderung des Speicherstoffs erklärt. Ein intrazellulärer fermentativer Abbau von Carboxymethylcellulose ist nach JUNG und BRIZIARELLI (1954) nicht möglich. Andererseits ist ein Verlust der Nachweisbarkeit des Speichermaterials bei der in den eigenen Untersuchungen angewendeten Nachweismethode der Perjodat-Leukofuchsinreaktion nicht anzunehmen. Als Erklärung für die tatsächlich langsam fortschreitende Abnahme der Zahl der Speicherzellen und der Verminderung der Speichersubstanz ist jedoch zu erwägen, ob es nicht im Laufe der Zeit zu einer Ausstossung kleiner Mengen aus dem Zelleib des für die Zelle unverdaubaren Materials kommt. Ferner ist an die Möglichkeit zu denken, daß einzelne Speicherzellen mit dem Speicherstoff zugrunde gehen und das freiwerdende Material von mehreren anderen Zellen aufgenommen wird. Dieser Vorgang würde im Endeffekt zu einer Verminderung des Speicherstoffs pro Zelle führen. Auch durch "Klasmatose" kann es zu einer Umverteilung des Speicherstoffs kommen. Hierbei befreit sich die Zelle von dem Speichermaterial, indem ein Teil der

Zelle samt der darin gespeicherten Substanz abgestossen wird. Auch ein auf diese Weise abgetrennter Zellteil kann von anderen Phagocyten aufgenommen werden (TÖRÖ 1961).

Für die endgültige Ausscheidung nicht abbaubarer Speicherstoffe gibt es zwei Wege: durch die Lunge und durch die Niere. PATEK und BERNICK (1960) sowie TÖRÖ (1961) haben beschrieben, daß abgestorbene Speicherzellen vor allem aus der Leber und Milz in die Lungen gelangen. Dort werden die zerfallenden Speicherzellen samt dem gespeicherten Material von den Alveolarphagocyten aufgenommen und gelangen über den Alveolarraum bzw. Trachealbaum nach außen. JUNG und BRIZIARELLI (1954) konnten jedoch in ihren Speicherversuchen mit Carboxymethylcellulose nur äußerst geringe Mengen dieser Substanz in der Lunge nachweisen. Entsprechende Lungenpräparate aus einer Versuchsserie von GRAUMANN (nicht veröffentlicht) ergaben negative Befunde. Von den Versuchen mit Polyphloretinphosphat standen keine Lungenpräparate zur Verfügung.

Nach Untersuchungen von NOVELLO und WESSEL (1963) wird der größte Teil von Carboxymethylcellulose durch die Nieren ausgeschieden, ohne grössere Schädigungen hervorzurufen. Beim Polyphloretinphosphat muß, falls es in großen Mengen durch die Nieren zur Ausscheidung gelangt, mit nephrotischen Veränderungen gerechnet werden (GRAUMANN 1957 a).

Zusammenfassung

An Leber, Nebenniere und Lymphknoten des Goldhamsters wurde das Verhalten von Zellen des reticulo-endothelialen Systems bei Speicherung von Carboxymethylcellulose sowie von carboxymethylcellulose- und polyphloretinphosphathaltigen ACTH-Präparaten über einen Zeitraum von 3 Wochen nach der letzten Injektion histochemisch und morphologisch untersucht. Die Speicherstoffe wurden mit Hilfe der Perjodsäure-Leukofuchsin-Reaktion und der Aldehydfuchsinfärbung nachgewiesen.

Der Speicherstoff tritt zu Beginn des Versuchs in Form feiner, im Cytoplasma verteilter Granula, später in Form

grober Schollen in Erscheinung. Diese Veränderung des morphologischen Erscheinungsbildes ist Ausdruck einer fortschreitenden Substratakkumulation.

Nach maximaler Auffüllung des Speicherzellsystems mit Polyphloretinphosphat kommt es zu ausgeprägten Zelluntergangserscheinungen und damit zur Umverteilung und Eliminierung des Speicherstoffs. Die Zellschädigung ist nach Applikation von Carboxymethylcellulose wesentlich geringer, deshalb ist in diesem Fall auch am Ende der Versuchsdauer keine wesentliche Entleerung des Speicherzellsystems festzustellen. Die Auffüllung der Speicherzellen mit Carboxymethylcellulose wird durch ACTH-Zusatz stark beschleunigt.

Die Zellschädigung insbesondere bei Speicherung von Polyphloretinphosphat wird so gedeutet, daß die bei der Aufnahme des Speicherstoffs in die Zellen übermäßig gesteigerten anabiotischen Vorgänge in Katabiose umschlagen.

Für die viel langsamere Eliminierung der Carboxymethylcellulose dürften Klasmatocytosevorgänge eine wesentliche Bedeutung haben.

Auf Grund der vorgelegten Befunde muß damit gerechnet werden, daß sowohl Carboxymethylcellulose als auch Polyphloretinphosphat, die beide als Trägersubstanzen für ACTH-Depotpräparate Verwendung gefunden haben, zu einer relativ langdauernden Belastung des reticulo-endothelialen Systems, z.T. auch zu dessen Schädigung führen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

ASCHOFF,L.
Das retikulo-endotheliale System.
Ergebn.inn.Med.Kinderheilk. 26, 1-118 (1924)

BRAUN-FALCO,O.
Beitrag zur Histochemie des Aldehydfuchsins.
Acta histochem. (Jena) 2, 264-69 (1956)

DICZFALUSY,E., FERNÖ,O., FEX,H., HÖGBERG,B., LINDEROT,T. and ROSENBERG,TH.
Synthetic high molecular weight enzyme inhibitors.
I. Polymeric phosphates of phloretine and related compounds.
Acta chem.scand. 7, 913-2o (1953)

EHRICH,W.
Die Entzündung.
In: Handbuch der allgemeinen Pathologie,Band VII/I.
Springer-Verlag, Berlin (1956)

FISCHER,F.K.
Die Darstellung des Bronchialbaumes mit wasserlöslichen Kontrastmitteln.
Schweiz.med.Wschr. 78, 1o25-33 (1948)

--
Die Jodölbronchographie als schädigender diagnostischer Eingriff.
Schweiz.med.Wschr. 8o, 273-78 (195o)

GABE,M.
Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine-paraldéhyde.
Bull.micr.appl. 3, 153-62 (1953)

GASTALDI,A.
Sulla possibile utilizzazione delle soluzioni alcooliche di fucsina e del colorante "paraldeide fucsina" in presenza di ioni-idrogeno nella tecnica istochimica.
Riv.istochim. 1, 15-28 (1954)

GEDIGK,P. und BONTKE,E.
Über die Enzymaktivität im Fremdkörpergranulationsgewebe.
Virchows Arch.path.Anat. 33o, 538-68 (1957)

-- und FISCHER,R.
Über die Anpassung der Enzymaktivität von Histiocyten an funktionelle Leistungen.
Klin.Wschr. 38, 8o6-o9 (196o)

GEDIGK,P. und PIOCH,W.
Über die Bildung von organischen Substanzen in Siliciumdioxydgranulomen.
Virchows Arch.path.Anat. 328, 513-35 (1956)

GERSH,J. and CATCHPOLE,H.R.
The organization of ground substance and basement membrane and its significance in tissue injury, disease and growth.
Amer.J.Anat. 85, 457-521 (1949)

GOMORI,G.
Aldehyde-fuchsin: a new stain for elastic tissue.
Am.J.clin.Path. 2o, 665-66 (195o)

GRAUMANN,W.
Zur Standardisierung des Schiff'schen Reagens.
Z.wiss.Mikrosk. 61, 225-26 (1953)

--
Topochemische Untersuchungen über die perjodat-reaktiven Stoffe in der Nebenniere des Gold-hamsters.
Acta histochem. (Jena) 2, 237-58 (1956 a)

--
Beobachtungen über Bildung und Sekretion perjodatreaktiver Stoffe im Nebennierenmark des Goldhamsters.
Z.Anat.Entwickl. 119, 415-3o (1956 b)

--
Über Phagocyten in der Nebenniere des Gold-hamsters.
Verh.Anat.Ges. 53Vers. (Stockholm), 83-88 (1956 c)

--
Zum Wirkungsmechanismus des Depoteffektes von ACTH-Präparaten.
Klin.Wschr. 34, 1265-66 (1956 d)

--
Über die zelluläre Speicherung von Carboxy-methylcellulose und Polyphloretinphosphat.
Z.Zellforsch. 46, 43o-46 (1957 a)

--
Weitere Befunde zur interstitiellen Speicherung in der Nebenniere.
Verh.Anat.Ges. 54.Vers. (Freiburg/Br.), 354-6o (1957 b)

GRAUMANN,W.
Vergleichende Untersuchungen zur Frage der Spezifität verschiedener Modifikationen der Polysaccharid-Eisenreaktion.
Acta histochem. (Jena) 5, 49-61 (1958)

-- und GOTHE,H.-D.
Der cytochemische Nachweis der Trägersubstanzen von ACTH-Depotpräparaten.
Acta histochem. (Jena) 6, 254-62 (1959)

HARMS,H.
Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie.
Staufen-Verlag, Lintfort (1958)

HEINZ,E.
Stofftransporte im menschlichen Körper.
Dtsch.med.Wschr. 87, 1829-33 (1962)

HOFFMANN,G.
Beitrag zur Anatomie und Topographie sektionstechnisch wichtiger Organe vom syr.Goldhamster (Mesocricetus auratus).
Mh.Vet.Med. 7, 188-91 (1952)

JANCSO,N.
Speicherung - Stoffanreicherung im Retikuloendothel und in der Niere.
Akadémiai Kiadó, Budapest (1955)

JUNG,H.P. und BRIZIARELLI,G.
Über das Verhalten eines Gemisches aus Methylcellulose und Carboxymethylcellulose im tierischen Organismus.
Virchows Arch.path.Anat. 326, 1-21 (1954)

LEBLOND,C.P.
Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult rat.
Amer.J.Anat. 86, 1-49 (1950)

LEPPER,L.
Vitalfärbungsversuche an überlebenden Bindegewebszellen.
Z.Zellforsch. 2, 249-56 (1925)

LETTERER,E.
Über die Wirkung von elektrokolloidalem Kupfer auf das RES.
Klin.Wschr. 12, 597-600 (1933)

--
Allgemeine Pathologie. Grundlagen und Probleme. Ein Lehrbuch.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1959)

LINDNER,J.
Weitere Befunde zur Enzymhistochemie der Bindegewebszellen.
In: Acta histochem. (Jena), Supplementband IV (1964)

LIPP,W.
Histochemische Methoden.
R.Oldenbourg Verlag, München (seit 1954)

LISON,L.
Histochimie et Cytochimie Animales.
Gauthier-Villars, Paris (1960)

LUDANY,G.
Probleme der Phagozytose von Mikrophagen.
In: Makrophagen und Phagocytose,
Symposia Biologica Hungarica, Vol. 2.
Akadémiai Kiadó, Budapest (1961)

McMANUS,J.F.A.
Histological and histochemical uses of periodic acid.
Stain Techn. 23, 99-108 (1948)

v.MÖLLENDORFF,W.
Experimentelle Vakuolenbildung in Fibrocyten der Gewebekultur und deren Färbung durch Neutralrot.
Z.Zellforsch. 23, 746-60 (1936)

NOVELLO,G. und WESSEL,W.
Experimentelle Nierenschädigung durch Cellulose-derivate im elektronenoptischen Bild.
Virchows Arch.path.Anat. 336, 278-90 (1963)

PARI,A.G.
Über die Verwendbarkeit vitaler Karmineinspritzungen für die pathologische Anatomie.
Frankfurt.Z.Path. 4, 1-29 (1910)

PATEK,P.R. and BERNICK,S.
Time Sequence Studies of Reticuloendothelial Cell Responses to Foreign Particles.
Anat.Rec. 138, 27-37 (1960)

ROMEIS,B.
Mikroskopische Technik, 15.Aufl.
Leibniz-Verlag, München (1948)

SCHMIDT,W.
Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die intrazelluläre Verarbeitung von Vitalfarbstoffen.
Z.Zellforsch. 58, 573-637 (1962)

SCHMIDTMANN,M. und DICK,H.
Kann die Bronchographie mit Joduron B zu Dauerschäden führen?
Dtsch.med.Wschr. 77, 1o9o (1952)

SCHNEEBELI,G.L., DOUGHTERTY,T.F. and LOEWE,S.
Production of cytoplasmic azurophilic inclusions in connective tissue cells by suspending agents.
Proc.Soc.exper.Biol.Med. 77, 4o7-11 (1951)

SCOTT,H.R. and CLAYTON,B.P.
A comparison of the staining affinities of aldehyde-fuchsin and the Schiff reagent.
J.Histochem.Cytochem. 1, 336-52 (1953)

SELYE,H.
Changes in adrenal medulla following treatment with an ACTH-preparation containing carboxymethylcellulose.
Proc.Scc.exper.Biol.Med. 9o, 67o-72 (1955)

STAUBESAND,J.
Zur Histophysiologie des Herzbeutels. 2.Mitteilung. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Passage von Metallsolen durch mesotheliale Membranen.
Z.Zellforsch. 58, 916-52 (1963)

TÖRÖ,I.
Beobachtungen an Gewebsmakrophagen.
In: Makrophagen und Phagocytose,
Symposia Biologica Hungarica, Vol.2.
Akadémiai Kiadó, Budapest (1961)

VISCHER,W.
Veränderungen des Lungengewebes nach Bronchographien mit Joduron B.
Schweiz.med.Wschr. 81, 54-58 (1951)

VULCHANOV,V.H.
Mikrophagen-Phagocytose in Beziehung zur Makrophagen-Blockade.
In:Makrophagen und Phagocytose,
Symposia Biologica Hungarica, Vol.2.
Akadémiai Kiadó, Budapest (1961)

WALLBACH,G.
Die Stellung der vitalen Diffusfärbung und der vitalen Kernfärbung unter den funktionellen Erscheinungen der Zelle.
Z.Zellforsch. 13, 18o-2o1 (1931)

WEISSMANN,CH.
Die Vitalfärbung mit Acridinorange an Amphibienlarven.
Z.Zellforsch. 38, 374-408 (1953)

-- und GILGEN,A.
Die Fluochromierung lebender Ehrlich-Ascites-Carcinomzellen und der Einfluß der Glykolyse auf das Verhalten der Zelle.
Z.Zellforsch. 44, 292-326 (1956)

WERTHEMANN,A. und VISCHER,W.
Zur Frage der Lungenveränderungen nach Bronchographien mit carboxymethylcellulosehaltigen Kontrastmitteln.
Schweiz.med.Wschr. 81, 1077-80 (1951)

WESSEL,W. und GEDIGK,P.
Die Verarbeitung und Speicherung von phagocytiertem Eisen im elektronenmikroskopischen Bild.
Virchows Arch.path.Anat. 332, 508-32 (1959)

WITTEKIND,D.
Untersuchungen zur Frage der Eiweißaufnahme in kernhaltigen Zellen des peripheren Blutes und in Ergußhistiocyten (Pinocytose).
Schweiz.med.Wschr. 90, 1264-65 (1960)

ZOLLINGER,H.U.
Schädigt die Joduron-Bronchographie das Lungenparenchym?
Schweiz.med.Wschr. 81, 200-16 (1951)

-- und FISCHER,F.K.
Weitere empirische und experimentelle Untersuchungen über die Joduron-Bronchographie.
Schweiz.med.Wschr. 83, 645-56 (1953)

Herrn Professor Dr.med.W.Graumann möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit, seine Kritik sowie für im Anatomischen Institut gebotene Arbeitsmöglichkeit herzlich danken.

Den wissenschaftlichen Mitarbeitern am Institut, Herrn Dr.M.Arnold und Herrn Dr.D.Sasse danke ich für ihren ständigen Rat und die Mithilfe bei der Anfertigung der Mikrophotographien.

L e b e n s l a u f

Ich, Hubert Bernhard von Jürgensonn, wurde am 7. Juli 1938 in Stuttgart als Sohn des Gutsbesitzers Woldemar von Jürgensonn und seiner Ehefrau Hildegard geb. Donner geboren.

In den Jahren 1944 - 1948 besuchte ich die Grundschule, anfangs in Pommern, später in Stuttgart. Dort besuchte ich auch das Dillmann-Realgymnasium, an dem ich 1958 die Reifeprüfung bestand.

An der Universität Tübingen studierte ich zunächst im Sommersemester 1958 und im folgenden Wintersemester Rechtswissenschaften. Im Sommersemester 1959 begann ich das Studium der Medizin und bestand 1960 die naturwissenschaftliche, 1961 die ärztliche Vorprüfung. Nach einem Semester in Kiel kehrte ich an die Eberhard-Karls-Universität in Tübingen zurück, an der ich im Dezember 1964 das medizinische Staatsexamen bestanden habe.